



Е.С. Проценко

Харьковский национальный
университет
имени В.Н. Каразина

© Е.С. Проценко

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ, БЕРЕМЕННОСТЬ КОТОРЫХ БЫЛА ОСЛОЖНЕНА САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Резюме. Исследование ультраструктуры клеток печени плодов и новорожденных от матерей с сахарным диабетом различной степени тяжести выявило дистрофические и деструктивные изменения органелл, свидетельствующие о нарушении внутриклеточной биоэнергетики гепатоцитов и снижении белково-синтезирующей функции. Показано, что с увеличением степени тяжести сахарного диабета активируются катаболические процессы, протекающие на субклеточном уровне.

Ключевые слова: сахарный диабет, ультраструктура печени, плод, новорожденный, митохондриальная дисфункция.

Введение

Работа выполнена в рамках НИР кафедры патологической анатомии Харьковского национального медицинского университета «Патоморфологические особенности формирования плода и новорожденного под влиянием патологии матери», номер госрегистрации № 0110U001805.

Сахарный диабет (СД) матери оказывает большое влияние на развитие плода и новорожденного. Существует ряд особенностей, отличающих детей, рожденных женщинами больными сахарным диабетом. К ним относят характерный внешний вид (круглое лунообразное лицо, чрезмерно развита подкожная жировая клетчатка), большое количество кровоизлияний на коже лица и конечностях [9], отечность, цианотичность [5], крупная масса, значительная частота пороков развития, функциональная незрелость органов и систем [3, 4, 7].

На фоне хронической гипоксии повышается синтез фетального гемоглобина (HbF), имеющего большее сродство к кислороду и глюкозе по сравнению с HbA, что способствует усугублению гипоксии [1]. Последняя является причиной увеличения эритропоэза у плода из-за значительной активации синтеза фетального эритропоэтина. Развивается органомегалия, в основном за счет печени и селезенки [2].

Накопление в тканях кислых продуктов обмена (ацидоз), изменение баланса электролитов за счет гипоксии приводят к внутриклеточному отеку, нарушению тканевого дыхания [8].

Морфологическое состояние внутриклеточных структур печени плода при материнском сахарном диабете на сегодняшний день остается малоизученным. Таким образом, считаем необходимым провести изучение и сравнительный анализ морфологического состояния ультраструктур гепатоцитов плода при мате-

ринском сахарном диабете различной степени тяжести.

Цель работы

Выявление влияния сахарного диабета матери различной степени тяжести на ультраструктуру клеток печени плодов и новорожденных.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на препаратах печени плодов и новорожденных, рожденных от матерей, беременность которых была осложнена СД I типа. В зависимости от степени тяжести СД I типа весь исследуемый материал был разделен на следующие исследуемые группы: D₁ – новорожденные от матерей с СД легкой степени тяжести (19 случаев наблюдения), D₂ – новорожденные от матерей с СД средней степени тяжести (23 случая наблюдения), D₃ – новорожденные от матерей с СД тяжелой степени (26 случаев наблюдения). Причинами смерти плодов, вошедших в исследуемую группу, явились острые нарушения маточно-плацентарного и пуповинного кровообращения, тугое обвитие пуповины вокруг шеи. Новорожденные погибали от ишемически-гипоксических поражений ЦНС. Группу контроля (К) составили новорожденные, выношенные в условиях физиологически протекавшей беременности и погибшие от тех же причин, что и в исследуемых группах (22 случая).

Кусочки ткани печени помещали в 2,5 % забуференный раствор глютарового альдегида на 5-6 часов при температуре 4 °С для предварительной фиксации. После промывки в буферном растворе ткань переносили в 1 % забуференный раствор четырехоксида осмия на 3-4 часа для окончательной фиксации при температуре 4 °С. Обезвоживание проводили в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне.

Затем кусочки печени пропитывали и заключали в блоки со смесью эпоксидных смол (эпон-аралдит) по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков осуществляли в термостате при температуре 60 °С в течение двух суток.

Из полученных блоков на ультрамикротоме УМТП-3М изготавливали ультратонкие срезы, которые монтировали на электролитические сеточки и, после контрастирования цитратом свинца и уранилацетатом, изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100БР при ускоряющем напряжении 75 кв.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование субмикроскопической организации клеток печени новорождённых от здоровых матерей показало, адекватность применяемых методик гистологической обработки ткани. Их ультраструктурная архитектура соответствовала современным представлениям.

В печеночных клетках плодов и новорождённых от матерей с сахарным диабетом легкой степени тяжести наблюдаются дистрофические изменения ультраструктурной организации органелл. Ядерный хроматин большей частью находится в деконденсированной форме и его гранулы равномерно распределены по матриксу. Вместе с тем отдельные гепатоциты имели ядра с конденсированным хроматином, глыбки которого располагались вблизи внутренней мембраны ядра. Перинуклеарные пространства умеренно расширены и заполнены электронно прозрачным веществом. Наблюдаются неглубокие инвагинации ядерной мембраны. В ядре практически отсутствовали ядрышки.

Количество митохондрий достаточно велико, они распределяются равномерно по цитоплазме, они существенно набухшие, матрикс их просветлён, а кристы дезорганизованы. На-

ружная мембрана и кристы разрыхлены. В отдельных митохондриях можно наблюдать очаги лизиса наружных мембран и крист (рис. 1).

Количество рибосом, как связанных с мембранами гранулярной эндоплазматической сети, так и свободно лежащих в цитоплазме существенно меньше, чем в контрольной группе препаратов. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулаума расширены, мембраны его разрыхлены, иногда встречаются очаги деструкции.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи несколько редуцирован, его гладкие мембраны теряют параллельную ориентацию, уменьшается количество везикул, окружающих его мембранную часть. Вблизи локализации мембран пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи иногда располагались вторичные лизосомы и мелкие включения липидов, обладающих различной электронной плотностью.

Жёлчные капилляры и пространства Диссе умеренно расширены и содержат небольшое количество микроворсинок. Цитоплазматическая мембрана гепатоцитов разрыхлена, осмиофильна и иногда очагово лизирована.

Звёздчатые макрофагоциты имели деструктивно изменённые органеллы. Мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулаума разрыхлены, на них мало рибосом. Количество рибосом в цитоплазме меньше, чем в группе контроля.

Митохондрии содержали просветлённый матрикс и небольшое количество коротких дезорганизованных крист. Отдельные митохондрии имели очаги деструкции наружных мембран и крист. В цитоплазме присутствовали мелкие включения липидов. Цитоплазматическая мембрана осмиофильная, утолщенная с очагами лизиса и разрыхления (рис. 2).

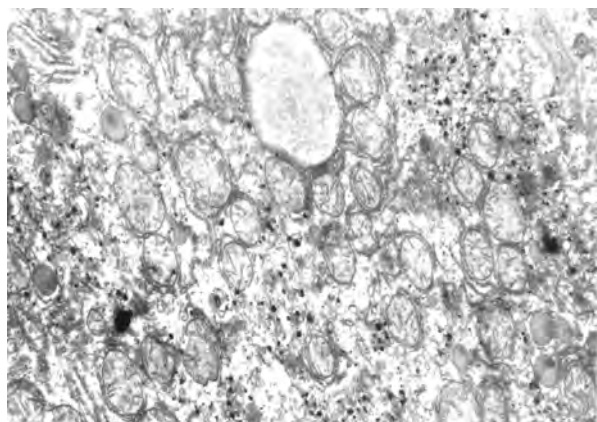


Рис. 1. Ультраструктура гепатоцитов печени новорождённых от матерей с сахарным диабетом лёгкой степени тяжести. Дезорганизация крист митохондрий, очаговый лизис мембран митохондрий. × 31 000. Контрастировано цитратом свинца и уранилацетатом

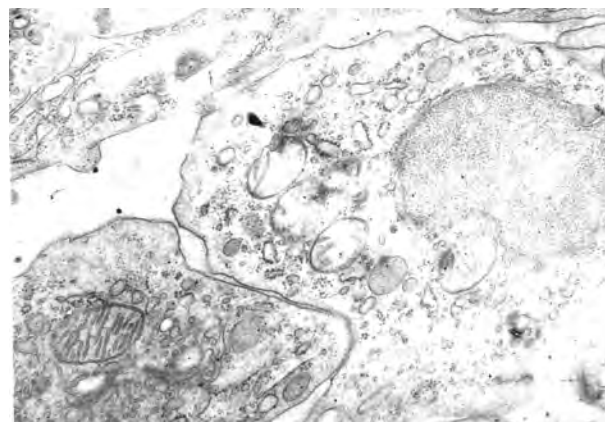


Рис. 2. Ультраструктура гепатоцитов печени новорождённых от матерей с сахарным диабетом лёгкой степени тяжести. Расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети, просветление матрикса митохондрий, дезорганизация крист. Контрастировано цитратом свинца и уранилацетатом. × 45000.



В гепатоцитах печени новорождённых от матерей с сахарным диабетом средней степени тяжести наблюдались субмикроскопические изменения органелл, характерные для начала развития воспалительной реакции.

Ядра гепатоцитов сохраняли округлую форму и центральное расположение в цитоплазме. В отдельных гепатоцитах наблюдалось перераспределение гранул хроматина с тенденцией его конденсации на ядерной оболочке. Ядерная мембрана разрыхлена, есть очаги деструкции. Перинуклеарные пространства неравномерно расширены.

В цитоплазме обнаруживались сильно набухшие митохондрии. Митохондриальная мембрана была сильно разрыхлена. Матрикс митохондрий обладал низкой электронной плотностью. Уменьшается количество крист, они дезорганизуются. Отдельные митохондрии имели частично лизированные кристы. Цитоплазма печёночных клеток просветлена и заполнена электронно-прозрачным веществом (рис. 3).

Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума сильно расширены. Отдельные участки мембран эндоплазматической сети подвержены лизису. В цитоплазме обнаруживалось небольшое количество гранул гликогена, рибосом и полисом.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован, его гладкие мембраны дезорганизованы и окружены большим количеством крупных и мелких вакуолей. В зоне его локализации встречались вторичные лизосомы и липидные капельки (рис. 4).

Цитоплазматическая мембрана не содержала очагов деструкции. Желчные капилляры и пространства Диссе умеренно расширены и заполнены единичными, набухшими микро-

ворсинками. Отдельные микроворсинки были разрушены.

Ядра звёздчатых макрофагocитов имели неправильную форму и электронно-прозрачный матрикс. Ядерная мембрана образовывала глубокие и мелкие инвагинации и была разрыхлена. Иногда обнаруживались очаги её лизиса.

Митохондрии мелкие, с электронно-прозрачным матриксом и единичными кристами. Встречались митохондрии с тотально разрушенными кристами и наружными мембранами. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума вакуолизированы.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован, в области его локализации обнаруживались вторичные лизосомы и включения липидов. Цитоплазматическая мембрана разрыхлена и очагово разрушена. Характерным для этой группы препаратов является уменьшение количества органелл и снижение электронной плотности цитоплазмы (рис. 5).

При электронно-микроскопическом исследовании печени новорождённых от матерей с сахарным диабетом тяжёлой степени тяжести в субмикроскопической архитектонике гепатоцитов обнаружены дистрофические и деструктивные нарушения органелл и внутриклеточных мембранных комплексов.

Ядра гепатоцитов выглядели электронно пустыми, их матрикс имел грубо волокнистую структуру. Мембрана ядра разрыхлена с участками лизиса. Деконденсированный хроматин в матриксе ядра практически отсутствовал. В перинуклеарной области цитоплазмы отсутствовали органеллы и эта область цитоплазмы обладала низкой электронной плотностью и содержала бесструктурную субстанцию (рис. 6).

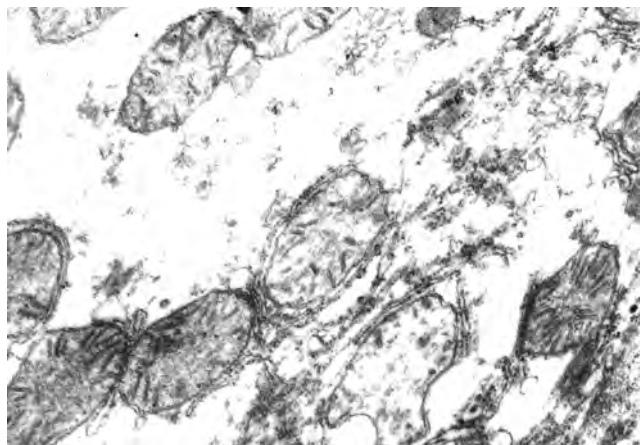


Рис. 3. Ультраструктура гепатоцитов печени новорождённых от матерей с сахарным диабетом средней степени тяжести. Просветление цитоплазмы. Контрастировано цитратом свинца и уранилацетатом × 31000

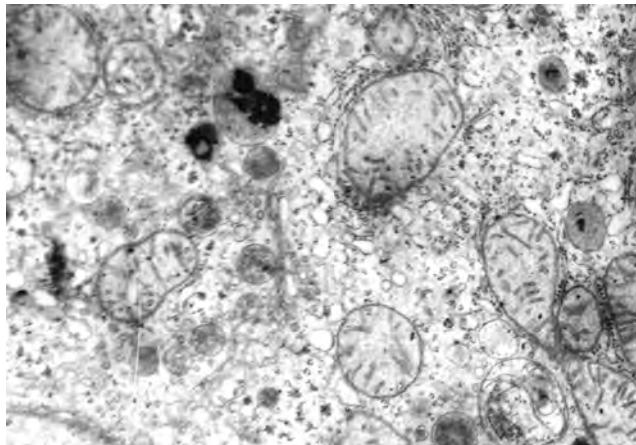


Рис. 4. Ультраструктура гепатоцитов печени новорождённых от матерей с сахарным диабетом средней степени тяжести. Редукция пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи, включения липидов в цитоплазме. Контрастировано цитратом свинца и уранилацетатом. × 32000

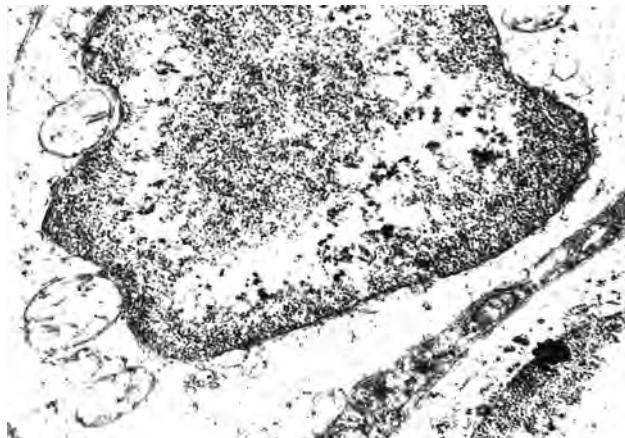


Рис. 5. Ультраструктура зірчатих макрофагоцитів печини новонароджених от матерей с сахарним диабетом середньої ступені тяжкості. Просвітлення матрикса митохондрий и цитоплазми, дезорганізація крист. Контрасторовано цитратом свинця и уранілацетатом. $\times 44000$.

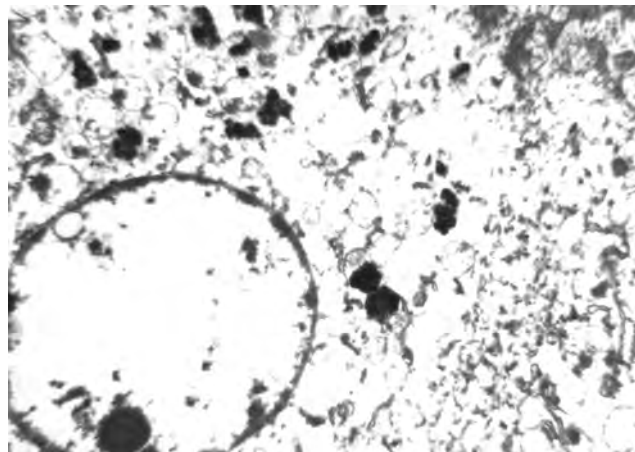


Рис. 6. Ультраструктура гепатоцитів печини новонароджених от матерей с сахарним диабетом тяжкої ступені. Електронно-прозрачний матрикс ядра. Контрасторовано цитратом свинця и уранілацетатом $\times 29000$.

Мітохондрії гепатоцитів сильно варіювали по величині и формі. В більшості випадків они обладали низкою електронною щільністю, их зовнішня мембрана очагово розрушена. Небольшое количество дезорганізованих крист подвержено лізису. Зачастую зустрічались мітохондрії с повним відсуттвом крист.

Найбільше глибоким зміненням подвергался гранулярний ендоплазматический ретикулум, цистерни которого были різко розширені и представляли собою обширну систему електронно-прозрачних вакуолей різних по величині и формі. На поверхностях его мембран обнаружилось небольшое количество рибосом. Очень часто можно было наблюдать фрагментацію мембран ендоплазматическої сітки. Аналогічним зміненням подвержен и агранулярний ендоплазматический ретикулум. Количество свободних рибосом и полісом в цитоплазмі печеночних кліток существенно ниже, чем в групі новонароджених от матерей с сахарним диабетом середньої ступені тяжкості.

Пластинчатий цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован и представлен отдельними хаотически орієнтованими гладкими мембранами и крупними електронно-прозрачними вакуолями. В непосредственной близости к гладким мембранам пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи локализовались многочисленные крупные включения ліпидов (рис. 7).

В целом гиалоплазма печеночних кліток просвітлена. Цитоплазматическая мембрана гепатоцитів была розрушена, имела высокую ступеню осміофілії и множественные очаги розрушения.

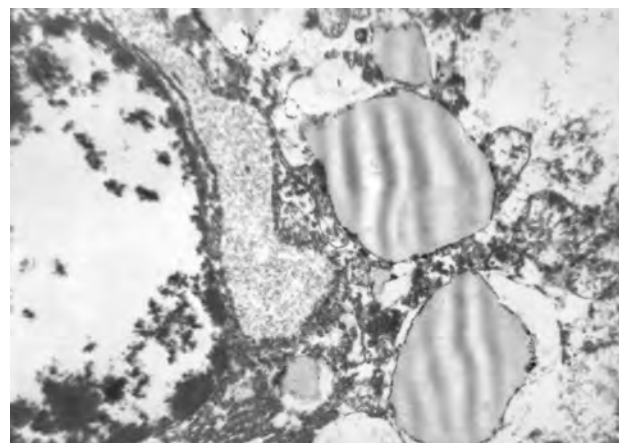


Рис. 7. Ультраструктура гепатоцитів печини новонароджених от матерей с сахарним диабетом тяжкої ступені. Крупные включения ліпидов в цитоплазмі. Контрасторовано цитратом свинця и уранілацетатом $\times 35000$.

Пространства Діссе были спавшиєся и содержали плотно упакованные, зачастую розрушенні мікроворсинки. Жёлчные капіляры розширені и практически не содержала мікроворсинки.

Ядра зірчатих макрофагоцитів сохраняли типичную форму, однако глыбки конденсированного хроматина располагались по периферии матрикса и имели грубо комковатую структуру. Перинуклеарные пространства неравномерно розширені. Ядерная мембрана розрушена.

В цитоплазмі зірчатих макрофагоцитів обнаруживаются набухшіє мітохондрії, с електронно-прозрачним матриксом и полностью розрушенными кристами. Нередко зустрічались мітохондрії с очаговою деструкцією зовнішніх мембран.

Цитоплазма зірчатих макрофагоцитів содержала розширенні цистерни грануляр-



ного эндоплазматического ретикулума, на мембранах которого отсутствовали рибосомы. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован и с трудом визуализируется. В цитоплазме выявлялось небольшое число свободных рибосом, полисом и включений липидов. Цитоплазматическая мембрана деструктивно изменена.

В печеночных клетках новорождённых от матерей с сахарным диабетом легкой степени тяжести выявлены дистрофические изменения ультраструктурной организации органелл. Наблюдаются неглубокие инвагинации ядерной мембраны и расширение перинуклеарного пространства. В ядре практически отсутствовали ядрышки.

Просветление матрикса митохондрий и дезорганизация крист, а также разрыхление наружных мембран, свидетельствуют о нарушении внутриклеточной биоэнергетики гепатоцитов. Следствием этого является снижение белково-синтезирующей функции клеток печени [9], что структурно подтверждается уменьшением количества рибосом, как связанных с мембранами гранулярной эндоплазматической сети, так и свободно лежащих в цитоплазме, а также разрыхление и очаговый лизис внутриклеточных мембран. В этой группе новорожденных начинают активироваться катаболические процессы, структурным выражением которых является появление в области локализации пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи вторичных лизосом и мелких включений липидов.

В гепатоцитах печени новорождённых от матерей с сахарным диабетом средней степени тяжести наблюдались субмикроскопические изменения органелл, характеризующиеся углублением дистрофического процесса и перехода его в деструктивную фазу.

Просветление матрикса митохондрий, уменьшение количества крист, их дезорганизация и очаговый лизис мембран указывают на развитие митохондриальной дисфункции. В гепатоцитах страдает и белково-синтезирующая функция, что подтверждается наличием очагов лизиса мембран эндоплазматической сети. В результате этого процесса наблюдается снижение числа гранул гликогена в цитоплазме.

Согласно данным литературы и нашим исследованиям, это может быть обусловлено фетальной гипергликемией и гиперинсулинемией, что приводит к снижению гликогенсинтетической функции печени, которое морфологически проявляется обеднением гепатоцитов гликогеном [5, 6].

В гепатоцитах нарастает степень выраженности жировой дистрофии, на что указывает наличие скоплений липидов в цитоплазме.

Существенным деструктивным изменениям подвергаются ядра звёздчатых макрофагоцитов, ядерная мембрана которых разрыхлена и подвержена лизису. В отдельных гепатоцитах обнаруживаются тотально разрушенные митохондрии и фрагментированный гранулярный эндоплазматический ретикулум. Обнаруженные изменения свидетельствуют о нарушении адаптационной реакции печени плода под влиянием сахарного диабета матери [6, 9].

При электронно-микроскопическом исследовании печени новорождённых от матерей с сахарным диабетом тяжёлой степени в субмикроскопической архитектонике гепатоцитов превалировали деструктивные нарушения органелл и внутриклеточных мембранных комплексов. Выявлено разрыхление и очаговый лизис ядерных мембран, мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума, наружных мембран и крист митохондрий и редукция пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. Степень выраженности этих нарушений позволяет констатировать превалирование катаболических процессов над анаболическими и указывает на истощение компенсаторно-приспособительных реакций, что согласуется с данными литературы [9].

Очаговой деструкции подвержены и звёздчатые макрофагоциты. Ядерная мембрана, мембраны митохондрий и эндоплазматической сети зачастую были разрушены.

Цитоплазма звездчатых макрофагоцитов содержала расширенные цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума, на мембранах которого отсутствовали рибосомы. В цитоплазме выявлялось небольшое число свободных рибосом, полисом и включений липидов.

Выводы

1. В печеночных клетках новорождённых от матерей с сахарным диабетом легкой степени тяжести выявлены дистрофические изменения ультраструктурной организации органелл, что свидетельствует о нарушении внутриклеточной биоэнергетики гепатоцитов и снижении белково-синтезирующей функции. Начинают активироваться катаболические процессы, структурным выражением которых, является наличие вторичных лизосом и мелких включений липидов.

2. Средняя степень тяжести сахарного диабета у матерей вызывает у новорожденных субмикроскопические изменения органелл, характеризующиеся углублением дистрофического процесса и перехода его в деструктивную фазу.

3. У новорождённых от матерей с сахарным диабетом тяжёлой степени в субмикроскопической архитектонике гепатоцитов развива-



лись большей частью деструктивные нарушения органелл и внутриклеточных мембранных комплексов, что указывает на превалирование катаболических процессов над анаболическими.

4. Существенным деструктивным изменениям вне зависимости от степени тяжести сахарного диабета матери подвергается субмикроскопическая архитектура звездчатых макрофагов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Выбор метода* инсулинотерапии у беременных с сахарным диабетом 1 типа / Н.Ю. Арбатская [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2011. – № 3. – С. 37-43.
2. *Данилова М.Л.* Билиарная патология у больных сахарным диабетом 2-го типа и пути ее коррекции с применением курортных факторов / М.Л. Данилова, В.В. Трусов // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2011. – № 3. – С. 15-18.
3. *Дедов И.И.* Сахарный диабет у детей и подростков : рук. / И.И. Дедов, Т.Л. Кураева, В.А. Петеркова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 160 с.
4. *Колуэлл Дж. А.* Сахарный диабет: новое в лечении и профилактике / Колуэлл Дж. А., Дж.А. Колуэлл; пер с англ. М.В. Шестаковой, М.Ш. Шамхаловой. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 288 с.
5. *Новые критерии диагностики гестационного сахарного диабета* / А. К. Рагозин [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2011. – № 3. – С. 122-129.
6. *Проценко Е.С.* Морфометрическая характеристика гепатоцитов плодов и новорожденных от матерей с сахарным диабетом // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2010. – № 4 (49) – С. 25-28.
7. *Сиротина О.Б.* Особенности состояния тимуса плодов и новорожденных детей от матерей с сахарным диабетом типа 1: [тезисы IV Съезда Российской ассоциации специалистов ультразвуковой диагностики в медицине] / О.Б. Сиротина, Е.А. Зубарева // Ультразвуковая и функциональная диагностика. – 2011. – № 5. – С. 94-95.
8. *Arduini D.* Sonographic automated volume count (SonoAVC) in volume measurement of fetal fluid-filled structures: comparison with virtual organ computer-aided analysis (VOCAL) / D. Arduini, M. Capponi, G. Rizzo // Ultrasound Obstet Gynec – 2008 – Vol. 32, № 1 – P. 111-112;
9. *Stratton I.M.* Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. / I.M. Stratton, A.I. Adler, H.A. Neil [et al.] // BMJ – 2000. – Vol. 321. – P. 405-12.

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ
КЛІТИН ПЕЧІНКИ ПЛОДІВ
І НОВОНАРОДЖЕНИХ
ВІД МАТЕРІВ, ВАГІТНІСТЬ
ЯКИХ БУЛА УСКЛАДНЕНА
ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

О.С. Проценко

ULTRASTRUCTURAL
CHANGES OF CELLS
OF LIVER OF FETUS AND
NEW-BORN FROM
MOTHERS, WHICH
PREGNANCY WAS
COMPLICATED BY
A DIABETES MELLITUS

E.S. Protsenko

Резюме. Дослідження ультраструктури клітин печінки плодів і новонароджених від матерів з цукровим діабетом різного ступеня тяжкості виявило дистрофічні і деструктивні зміни органел, що свідчать про порушення внутрішньоклітинної біоенергетики гепатоцитів і зниження білково-синтезуючої функції. Показано, що зі збільшенням ступеня тяжкості цукрового діабету активуються катаболічні процеси, що протікають на субклітинному рівні.

Ключові слова: цукровий діабет, ультраструктура печінки, плід, новонароджений, мітохондріальна дисфункція

Summary. Research of ultrastructure of cells of liver of fetus and new-born from mothers with the diabetes mellitus of different degree of severity educed the dystrophic and destructive changes of organoids, testifying to disorders of intracellular bioenergetics of hepatocytes and decline of albuminous-synthesizing function. It is shown that with the increase of degree of severity of diabetes mellitus catastatic processes, flowing at subcellular level, are activated.

Key words: diabetes mellitus, ultrastructure of liver, fetus, new-born, mitochondrial dysfunction.